QUANTA Flash® MPO 701133

Reactivos

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

El QUANTA Flash MPO es un inmunoensayo quimioluminiscente (CIA) para la detección semicuantitativa de autoanticuerpos IgG antimieloperoxidasa (MPO) en suero humano con el instrumento BIO-FLASH®. El QUANTA Flash MPO sirve de ayuda en el diagnóstico de la poliangeítis microscópica (MPA) en combinación con datos clínicos y otras pruebas de laboratorio.

Resumen y explicación de la prueba

La prueba basada en el anticuerpo citoplasmático antineutrófilo (ANCA) ha revolucionado el diagnóstico y el tratamiento de las diferentes vasculitis mediadas por inmunocomplejos[1]. El ANCA perinuclear (pANCA) y el ANCA citoplasmático (cANCA) han demostrado tener utilidad clínica para ayudar en el diagnóstico de vasculitis de vasos pequeños como la granulomatosis con poliangeítis (GPA),[2] conocida anteriormente como granulomatosis de Wegener (WG), la glomerulonefritis extracapilar necrotizante idiopática, la poliangeítis microscópica (MPA) y el síndrome de Churg-Strauss (CSS). Asimismo, el ANCA puede encontrarse en otras enfermedades, como la poliarteritis nodosa, el síndrome de Goodpasture y la enfermedad inflamatoria intestinal.[2]

Los dos principales antígenos diana del ANCA son la mieloperoxidasa (MPO) y la serina-proteasa 3 (PR3). Existen varios estudios que analizan la prevalencia de los ANCA anti-PR3 y anti-MPO en diferentes enfermedades e investigan la sensibilidad y la especificidad de dichos autoanticuerpos.[3,4] Recientemente, se han desarrollado ensayos de captura o fijación para la detección de ANCA anti-PR3 y anti-MPO. A diferencia de la mayoría de ELISA de ANCA anti-PR3 y anti-MPO, los ensayos de captura y fijación no inmovilizan al antígeno mediante adsorción, por lo que se considera que presentan un mayor rendimiento de análisis gracias a una exposición óptima al antígeno. La prevalencia de ANCA anti-PR3 y anti-MPO en sus enfermedades asociadas depende de la cohorte de pacientes y de la metodología utilizada para detectar los anticuerpos.[3,4,5] Se ha comunicado que los ANCA anti-PR3 y anti-MPO se correlacionan con la actividad de la vasculitis.[6] La mayor parte de los expertos en el campo de la vasculitis autoinmunitaria todavía recomiendan utilizar el ensayo de inmunofluorescencia con neutrófilos humanos fijados en formalina y etanol para la detección inicial. A causa de la naturaleza rápidamente progresiva de la vasculitis de vasos pequeños, la detección precoz de ANCA anti-PR3 y anti-MPO es de gran importancia.[7,8]

Principios del procedimiento

Se recubren con MPO purificada nativa partículas de látex paramagnéticas que se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho de análisis está preparado para ser utilizado por primera vez, se invierte varias veces todo el cartucho para mezclar completamente los reactivos. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH®.

Mediante el instrumento se prediluye una muestra de suero de paciente utilizando tampón para muestras añadido a una cubeta de plástico desechable. Se combinan y se mezclan en una segunda cubeta pequeñas cantidades de suero diluido del paciente, las partículas de MPO y el tampón del ensayo. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, se magnetizan las partículas y se lavan varias veces. A continuación, se añaden anticuerpos anti-IgG humana conjugados con isoluminol a la cubeta y se incuba a 37 °C. De nuevo, las partículas se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente cuando se añaden a la cubeta los reactivos (“iniciadores”). La luz generada por la reacción se mide como unidades relativas de luz (URL) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de URL es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de autoanticuerpos IgG anti-MPO unidos a la MPO en las partículas.

El ensayo QUANTA Flash MPO utiliza una curva maestra predefinida específica para cada lote que se carga en el instrumento mediante el código de barras del cartucho de reactivos. De acuerdo con los resultados del análisis de dos calibradores, se crea una curva de trabajo específica para el instrumento que se usa para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) a partir de las RLU obtenidas con cada paciente.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash MPO contiene los siguientes reactivos para 50 determinaciones:
    a. Partículas paramagnéticas recubiertas de MPO, en un tampón que contiene líquido, estabilizantes de proteínas y conservante.
    b. Tampón de análisis, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
    c. IgG trazadora: anticuerpos anti-IgG humana etiquetada con isoluminol que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.
    d. Tampón de dilución de muestras, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.

Advertencias

1. El tampón de análisis contiene una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
4. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en la bandeja de reactivos del instrumento. La colocación del cartucho de reactivos en el instrumento por primera vez debe realizarse con todo cuidado para no verter los reactivos.
4. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos a 2-8°C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento y permanecen estables durante 84 días; tras este período, deben desecharse. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, así como las de los lotes de cartuchos de reactivos.

Recogida, preparación y manejo de las muestras

Este procedimiento debe realizarse con una muestra de suero. No deben utilizarse muestras que estén contaminadas con microorganismos, que hayan recibido un tratamiento por calor o que contengan partículas visibles. No debe utilizarse suero muy hemolizado, lipémico o ictérico.

Tras la recogida, el suero debe separarse del coágulo. El documento H18-A4 del CLSI recomienda las siguientes condiciones de almacenamiento de muestras:

1. No guarde las muestras a temperatura ambiente durante más de 8 horas.
2. Si el análisis no se efectúa en un plazo de 8 horas, refrigere las muestras a 2-8 °C.
3. Si el análisis no va a realizarse en un plazo de 48 horas o si debe preparar las muestras para enviarlas, congélelas a una temperatura de -20 °C o inferior. Las muestras congeladas deben mezclarse bien después de descongelarse y antes del análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

1 Cartucho de reactivos QUANTA Flash MPO

Materiales adicionales necesarios no suministrados

Instrumento BIO-FLASH con ordenador para manejarlo

Líquido de lavado del sistema BIO-FLASH (número de componente: 3000-8205)

Iniciadores BIO-FLASH (número de componente: 3000-8204)

Cubetas BIO-FLASH (número de componente: 3000-8206)

Calibradores QUANTA Flash MPO (número de componente: 701131)

Controles QUANTA Flash MPO (número de componente: 701132)

Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos al ensayo, póngase en contacto con el servicio técnico de INOVA Diagnostics, Inc., en la dirección o número de teléfono indicados al final de estas instrucciones de uso.
2. Para vaciar el recipiente de residuos sólidos, abra el cajón de residuos. Retire el recipiente de residuos sólidos y elimínelo de forma adecuada. Vuelva a colocar el recipiente de residuos sólidos en su lugar, cierre el cajón de residuos y haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**.
3. Para sustituir los iniciadores, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9**, situado en la parte superior derecha.
    a. En la pantalla **Inventory - Bulks**, haga clic en el botón **Triggers** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Add Triggers – Remove old bottles.**
    b. Abra y retire el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH. Tire todas las cubetas en el cajón de residuos secos. Haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**. Retire los frascos del iniciador de sus soportes y haga clic en el botón **Next**. Desenrosque los frascos viejos del iniciador de sus tapones y sustitúyalos por nuevos iniciadores. Realice la operación frasco a frasco y respete el código de color de los tapones (blanco-blanco, rojo-rojo).
    c. Siga las instrucciones de la ventana que se abrirá, **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 2 en el soporte de color blanco. Haga clic en **Next**.
    d. Siga las instrucciones de la ventana **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 1 en el soporte de color rojo. Haga clic en **Finish.** Vuelva a colocar el cajón de residuos en su lugar y ciérrelo.
4. Para sustituir el recipiente de líquido de lavado del sistema, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9**, en la esquina superior derecha. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Sys. Rinse**. En la ventana que se abrirá, **Add System Rinse – Remove bottles**, haga clic en **Next.** Siga las instrucciones de la ventana que aparecerá, **Add System Rinse – Add bottle.** Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finish**, si es necesario.
5. Para vaciar el recipiente de residuos líquidos, en la pantalla **Inventory - Bulks** haga clic en el botón **Fluid Waste**. Extraiga el residuo líquido y tírelo. Haga clic en **Next**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finish**.

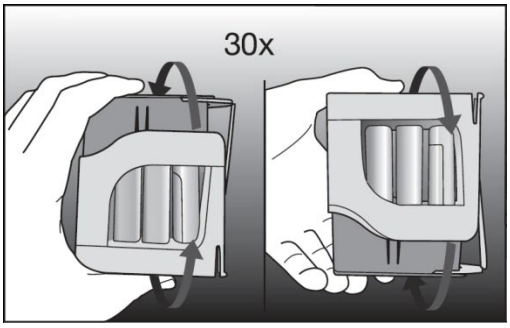
Método

Preparación del cartucho de reactivos

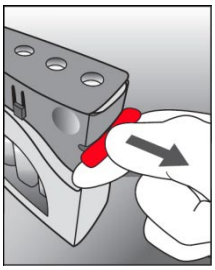
La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben seguirse los pasos indicados a continuación para instalar el cartucho con precisión en el instrumento BIO-FLASH. Nota: No utilice el cartucho de reactivos si observa algún signo de daño.

Cartucho de reactivos QUANTA Flash MPO: Durante el envío y el almacenamiento, las micropartículas se depositan y es preciso mezclarlas para volver a suspenderlas.

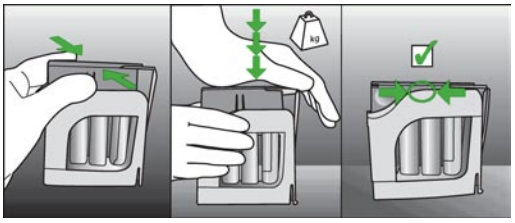
1. La primera vez que se utiliza el cartucho, invierta suavemente el cartucho 30 veces, evitando la formación de espuma. Compruebe que las micropartículas se resuspenden completamente. Si las micropartículas no se han resuspendido totalmente, siga invirtiendo el cartucho hasta que se produzca la resuspensión. Si las micropartículas no se resuspenden, NO UTILICE EL CARTUCHO.



2. Una vez que se hayan resuspendido las micropartículas, coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida para retirar la anilla roja. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la anilla roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



3. Pulse las dos pestañas laterales del tapón de perforación (parte gris) y aplique presión a la parte superior del cartucho de reactivos hasta que descienda y alcance un tope. Las pestañas deberían quedar ocultas. NO INVIERTA EL CARTUCHO ABIERTO.



4. Coloque con cuidado el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta del carro de reactivos del instrumento BIO-FLASH. Una vez colocado el cartucho en la bandeja de reactivos, el instrumento realiza mezclas periódicas adicionales de las partículas.

Calibración del ensayo

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **QUANTA Flash® MPO Calibratores (701131)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo calibrar el cartucho de reactivos.
3. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse.

Programación y análisis de muestras

1. Pulse el botón **Worklist** de la parte superior de la pantalla y seleccione la pestaña **Racks** de la parte inferior.
2. Seleccione la gradilla de muestras que se utilizará marcándola en la pantalla o escaneando su código de barras con el lector manual de códigos de barras. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione MPO en el panel del ensayo. Repita estos pasos para todas las muestras.
3. Cargue las muestras en las posiciones seleccionadas de la gradilla de muestras y coloque la gradilla en el carro de muestras del instrumento.
4. Cuando todos los materiales necesarios estén cargados en el instrumento, el icono de inicio pasará a estar disponible, en color verde, en la parte superior de la pantalla. Pulse el icono de **Start F4** para comenzar la sesión de análisis.

Control de calidad

Los controles QUANTA Flash MPO (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701132), contienen los controles positivos y negativos para la MPO. Consulte el apartado **QUANTA Flash® MPO Controls (701132)** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo introducir el valor de la unidad y la desviación estándar de cada control y cómo analizar los controles. Se recomienda analizar los controles una vez cada día en que se utilice el ensayo, aunque los usuarios también deben tener en cuenta los requisitos de la legislación nacional y local.

Cálculo de los resultados

En INOVA se produce una curva maestra de seis puntos para cada nuevo lote de QUANTA Flash MPO . Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reativos. Una vez calibrado un cartucho de reactivos, se utilizará una curva de trabajo especifica del equipo para convertir las RLU en CU. La reactividad del anticuerpo frente a la MPO puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

Reactividad	**CU**
Negativo	<20
Positivo	≥20

La reactividad expresada en CU está directamente relacionada con la titulación del autoanticuerpo en las muestras de paciente. Los aumentos y disminuciones de las concentraciones de anticuerpos de pacientes se reflejarán en un correspondiente aumento o disminución de las CU, que es proporcional a la cantidad de anticuerpo.

El rango notificable del ensayo va de 3,2 CU a 739,8 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 3,2 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 3,2 CU”. Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 739,8 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “> 739,8 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada “Reanálisis automático”. Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de manera automática cualquier muestra con un resultado superior a 739,8 CU diluyéndola nuevamente según un factor de 20 y calculará las CU utilizando este factor de dilución adicional.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en las poblaciones de pacientes. Cada laboratorio debe determinar su propio rango normal basándose en los controles y la población de pacientes que utilice, de acuerdo con los procedimientos específicos que establezca.

Es recomendable que los resultados comunicados por el laboratorio incluyan esta información: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA Flash MPO de INOVA. Los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes pueden no ser intercambiables. La magnitud de los niveles de anticuerpos obtenidos no siempre puede correlacionarse con un título de punto final.”

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con poliangeítis microscópica son positivos para los anticuerpos anti-MPO.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si los reactivos no se mezclan correctamente antes del primer uso, pueden obtenerse resultados erróneos.
4. Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para sustratos distintos del suero.

Valores esperados

Para establecer los valores esperados, se han analizado sueros de 400 donantes de sangre aparentemente sanos. La media fue <3,2 CU y el 95% se calculó como < 3,2 CU. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios rangos de referencia para reflejar a población estudiada

Trazabilidad

Actualmento no existe ningún estándar internacional reconocido para la determinación de anticuerpos IgG anti-MPO. Sin embargo, se ha analizado el suero de referencia internacional (IS2720, núm. 15, ANCA anti-MPO) del Center for Disease Control and Prevention (CDC), y se ha determinado una concentración de 331,6 CU. Asimismo, se ha realizado un análisis de linealidad, y se ha obtenido un valor de R^2 de 1,0. Puede utilizarse un factor de conversión de 0,3 para convertir las CU a UI/mL. Si se selecciona UI/mL, el software BIO-FLASH emplea el factor de conversión para indicar los resultados en UI/mL.

Comparación de métodos con un ensayo comercializado con el mismo fin

Las muestras usadas en la comparación de métodos fueron las de los estudios de validación clínica que se encontraban dentro del rango notificable del ensayo. Dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash MPO y un ELISA destinado al mismo fin.

Comparación de métodos (N = 178)		ELISA MPO			Concordancia (%) (intervalo de confianza: 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
CIA QUANTA Flash® MPO	Positivo	52	20	72	Conc. pos. = 100% (93,2-100,2%)
	Negativo	0	106	106	Conc. neg. = 84,1% (76,6-90,0%)
	Total	52	115	167	Conc. total = 88,8% (83,2-93,0%)

Sensibilidad y especificidad clínicas

El estudio de validación clínica contó con 89 muestras de granulomatosis con poliangeítis (GPA), 89 de poliangeítis microscópica (MPA), 10 de síndrome de Churg-Strauss (CCS), 47 de síndrome de Goodpasture (GPS), 73 de artritis reumatoide, 101 de lupus eritematoso sistémico, 7 de síndrome de Sjogren, 47 de enfermedad inflamatoria intestinal, 49 de esclerosis sistémica, 18 de esclerosis múltiple, 29 con el virus de la hepatitis B, 19 con el virus de la hepatitis C, 7 con el virus de la inmunodeficiencia humana, 10 de sífilis y 66 con otras enfermedades. También se incluyeron muestras procedentes de 405 donantes de sangre normales. Dado que los pacientes con CSS y GPS contenían anticuerpos anti-MPO, se excluyeron del cálculo de la especificidad.
Los resultados de este análisis son los siguientes:

Estudio clínico (N = 661)		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		MPA	Sin MPA	Total	
QUANTA Flash® MPO	Positivo	71	22*	93	Sensibilidad = 79,8% (69,9,4-87,6%)
	Negativo	18	550	568	Especificidad = 96,2% (94,2-97,6%)
	Total	89	572	661	Conc. Total = 93,9% (91,9-95,6%)
* Nueve muestras discrepantes de pacientes con GPA, 9 de pacientes GPS, dos de pacientes con EII, 1 de paciente con CSS y una de un paciente con LES.					

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash MPO se ha evaluado analizando 11 pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI; la tabla siguiente resume los datos obtenidos:

			Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
Muestra	N	Media	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
A	84	1,9	0,2	4,8%	0,0	0,0%	0,3	5,8%	0,4	7,5%
B	84	12,7	1,3	10,4%	0,0	0,0%	0,9	7,4%	1,6	12,8%
C	80	19,0	0,7	3,8%	0,0	0,0%	0,8	4,0%	1,1	5,5%
D	80	17,6	0,7	3,8%	0,2	0,9%	0,5	3,1%	0,9	5,1%
E	80	20,2	0,8	3,9%	0,0	0,0%	0,7	3,2%	1,0	5,1%
F	84	32,4	1,4	4,3%	0,0	0,0%	1,2	3,8%	1,9	5,8%
G	84	36,0	1,4	3,9%	0,0	0,0%	2,1	5,8%	2,5	7,0%
H	84	39,0	2,3	6,0%	0,0	0,0%	3,3	8,5%	4,1	10,4%
I	84	41,5	2,2	5,3%	0,0	0,0%	1,8	4,4%	2,9	6,9%
J	84	124,1	6,3	5,0%	0,0	0,0%	4,8	3,9%	7,9	6,4%
K	84	641,0	29,0	4,5%	0,0	0,0%	28,4	4,4%	40,5	6,3%

Límites de detección; rangos lineales y notificables

El límite inferior de detección del ensayo, de acuerdo con el documento EP17-A del CLSI, es de 560 RLU, aproximadamente, lo que equivale a 0,4 CU, muy por debajo del mínimo del rango notificable. El límite superior de detección aproximado es de 1.000.000 RLU, que está aproximadamente un 330% por encima del máximo del rango notificable. El rango notificable completo, que va de 3,2 CU a 739,8 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad siguiendo el documento EP6-A del CLSI y los datos obtenidos son los siguientes:

Muestra	**Rango del análisis (CU)**	**Pendiente (IC del 95%)**	**Intersección en Y (IC del 95%)**	**R^2**
1	De 1,3 a 12,5	0,99 (de 0,96 a 1,02)	0,0 (de -0,257 a 0,2)	1,00
2	De 3,2 a 32,1	1,00 (de 0,97 a 1,02)	0,6 (de 0,018 a 1,1)	1,00
3	De 8,8 a 87,7	1,01 (de 0,98 a 1,04)	0,7 (de -0,923 a 2,3)	1,00
4	De 32,3 a 322,5	1,02 (de 0,99 a 1,05)	2,6 (de -3,453 a 8,7)	1,00
5	De 93,9 a 939,0	0,97 (de 0,93 a 1,00)	32,0 (de 11,76 a 52,2)	0,99

Interferencia

Las muestras que contenían hasta 10 mg/dL de bilirrubina, 200 mg/dL de hemoglobina, 1.000 mg/dL de triglicéridos, 224 mg/dL de colesterol o 500 UI/mL de factor reumatoide IgM no presentaron interferencia en el QUANTA Flash MPO.

QUANTA Flash® MPO 701131

Calibradores

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los calibradores QUANTA Flash MPO están destinados a utilizarse con el inmunoensayo quimioluminiscente (CIA) QUANTA Flash MPO en el instrumento BIO-FLASH®. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo utilizada en la determinación de autoanticuerpos IgG antimieloperoxidasa (MPO) en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

El CIA QUANTA Flash MPO emplea una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los calibradores QUANTA Flash MPO están diseñados para generar una curva de trabajo específica para el instrumento a partir de los parámetros de la curva maestra, con un punto de decisión basado en las características operativas y en la evaluación clínica del CIA QUANTA Flash MPO. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. Calibrador 1 del QUANTA Flash MPO: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-MPO, prediluido y preparado para ser utilizado, y de 0,7 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

2. Calibrador 2 del QUANTA Flash MPO: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-MPO, prediluido y preparado para ser utilizado, y de 0,7 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los calibradores contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.

2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.

3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente al VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los calibradores QUANTA Flash MPO deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[9]

4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.

5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los calibradores QUANTA Flash MPO deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash MPO.
3. No transfiera los reactivos de los calibradores a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para ajustar los calibradores al tipo de ensayo adecuado.
4. Los tubos de los calibradores, una vez abiertos, pueden utilizarse durante un máximo de 8 horas o 4 calibraciones; transcurrido este tiempo, los reactivos deben desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los calibradores no abiertos a 2-8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartucho de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Cada calibrador debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del calibrador y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del calibrador e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.
3. El instrumento analizará cada calibrador por triplicado. Una vez analizados los calibradores, el software solicitará la validación de la calibración. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en botón **Choose more options – Ctrl-M (▼**), señalado con una flecha. Seleccione **Calibration Ctrl-F3**. En la ventana Calibración, marque el ensayo deseado y haga clic en **Details**.
4. En la ventana **Calibration Details** que se abrirá, seleccione la calibración que acaba de efectuar. La curva maestra se visualizará como una línea discontinua y la nueva curva maestra, como una línea continua. Si los resultados de la calibración son válidos, en la parte inferior izquierda de la pantalla aparecerá un botón de validación. Haga clic en el botón **Validate Calibration**.
5. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse. Se recomienda analizar los controles QUANTA Flash MPO (vendidos por separado; número de producto: 701132) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

Actualmente no existe ningún estándar internacional reconocido para la determinación de anticuerpos IgG anti-MPO. Sin embargo, se ha analizado el suero de referencia internacional (IS2720, núm. 15, ANCA anti-MPO) del Center for Disease Control and Prevention (CDC), y se ha determinado una concentración de 331,6 CU. Asimismo, se ha realizado un análisis de linealidad, y se ha obtenido un valor de R^2 de 1,0. Puede utilizarse un factor de conversión de 0,3 para convertir las CU a UI/mL. Si se selecciona UI/mL, el software BIO-FLASH emplea el factor de conversión para indicar los resultados en UI/mL.

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el que los tubos del calibrador pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es 8 horas. Si los calibradores destapados permanecen en el instrumento durante más de 8 horas, deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de calibrador para más de 4 calibraciones y/o durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que producirá resultados erróneos.

Controles

Para uso diagnóstico *In Vitro*

Uso previsto

Los Controles QUANTA Flash MPO están destinados al control de calidad del kit de inmunoensayo quimioluminiscente (ClA) QUANTA Flash MPO en un instrumento BIO-FLASH® utilizado para la determinación de autoanticuerpos IgG antimieloperoxidasa (MPO) en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

Los controles QUANTA Flash MPO están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos anti-MPO. El control negativo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de anticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de anticuerpos de moderados a altos.

Reactivos

1. Control negativo QUANTA Flash MPO: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-MPO, preparado para ser utilizado, y de 0,5 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

2. Control positivo QUANTA Flash MPO: Dos (2) tubos etiquetados mediante código de barras con tampón que contiene anticuerpos de suero humano anti-MPO, preparado para ser utilizado, y de 0,5 ml de volumen (contienen tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes).

Advertencias

1. Los controles contienen una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa y puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza las pilas de lavado para eliminar reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente al VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia del VIH, el VHB, el VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los controles QUANTA Flash MPO deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[9]
4. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
5. Los vertidos de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente para la eliminación de residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los controles QUANTA Flash MPO deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash MPO.
3. No transfiera los reactivos de los controles a tubos secundarios. Los códigos de barras de los tubos son utilizados por el instrumento para identificar al control.
4. Cada tubo de control, una vez abierto, es válido para 15 usos y puede permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento **en cada uso**.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o aclarado inadecuados del instrumento. Los residuos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Asegúrese de limpiar siempre el instrumento según el procedimiento recomendado, que está indicado en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos a 2-8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y manipulan como está indicado.
2. Los controles abiertos son válidos para 15 usos y pueden permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento en cada uso. El tiempo máximo durante el que los tubos de control pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante un periodo de tiempo de más de 2 ½ horas en total deben desecharse. Si se utiliza el mismo tubo de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.
3. Para conseguir una estabilidad óptima, retire los controles del sistema inmediatamente después de tomar las muestras y almacénelos tapados a 2-8 °C en el vial original.

Procedimiento

Para crear nuevos materiales de control de calidad para el ensayo MPO:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash MPO por primera vez en el instrumento, introduzca en el software el nombre, el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Haga clic en el botón **New QC Material**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. En primer lugar, introduzca el nombre, el número de lote y la caducidad de esta hoja de datos en el software. A continuación, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, asegúrese de que está marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo MPO de la lista y haga clic en **Add**. Por último, introduzca la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Para crear un nuevo lote para los materiales de control de calidad existentes:

1. Antes de utilizar un nuevo lote de controles QUANTA Flash MPO por primera vez, introduzca en el software el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón **Choose more options – Ctrl-M (▼)**, señalado con una flecha. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo MPO en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha (“MPON” para el control negativo o bien “MPOP” para el control positivo). Haga clic en el botón **New QC Lot**.

3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. Introduzca la información de esta hoja de datos en el software. Dicha información debe comprender el número de lote, la caducidad, la dosis objetivo y la DE objetivo. Si es necesario, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, asegúrese de que está marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo MPO de la lista y haga clic en **Add**. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar los controles QUANTA Flash MPO una vez cada día en que se utilice el ensayo, aunque los usuarios también deben tener en cuenta los requisitos de la legislación nacional y local.

Cada control debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo, para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del control y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del control e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.

Trazabilidad

Se ha analizado el suero de referencia internacional (IS2720, núm. 15, ANCA anti-MPO) del *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), y se ha determinado una concentración de 331,6 CU. Asimismo, se ha realizado un análisis de linealidad, y se ha obtenido un valor de R^2 de 1,0.

Limitaciones

Estos controles están diseñados para 15 usos. La etiqueta de cada tubo de control posee una fila de 15 casillas que pueden marcarse para controlar el número de usos. El tiempo máximo durante el que los tubos de control pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más tiempo deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.

Bibliografía

1. Kallenberg CG: **Pathogenesis of ANCA-associated vasculitides.** *Ann Rheum Dis* 2011, **70 Suppl 1:** i59-i63.

2. Trevisin M, Pollock W, Dimech W, Savige J: **Evaluation of a multiplex flow cytometric immunoassay to detect PR3- and MPO-ANCA in active and treated vasculitis, and in inflammatory bowel disease (IBD).** *J Immunol Methods* 2008, **336:** 104-112.

3. Holle JU, Hellmich B, Backes M, Gross WL, Csernok E: **Variations in performance characteristics of commercial enzyme immunoassay kits for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies: what is the optimal cut off?** *Ann Rheum Dis* 2005, **64:** 1773-1779.

4. Mahler M, Radice A, Yang W, Bentow C, Seaman A, Bianchi L, Sinico RA. **Development and performance evaluation of novel chemiluminescence assays for the detection of anti-PR3 and anti-MPO antibodies.** *Clin Chim Acta* 2012, **413**:719-26.

5. Trevisin M, Pollock W, Dimech W, Melny J, Paspaliaris B, Gillis D *et al*.: **Antigen-specific ANCA ELISAs have different sensitivities for active and treated vasculitis and for nonvasculitic disease.** *Am J Clin Pathol* 2008, **129:** 42-53.

6. Xu PC, Chen M, Cui Z, Zhao MH: **Influence of myeloperoxidase by anti-myeloperoxidase antibodies and its association with the disease activity in microscopic polyangiitis.** *Rheumatology (Oxford)* 2010, **49:** 2068-2075.

7. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J: **Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCAs; an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes.** *Nephrol Dial Transplant* 1997, **12:** 1863-1868.

8. Aslam A, Newman TL, Misbah SA: **Audit of the clinical usefulness of a rapid qualitative ELISA screen for antimyeloperoxidase and antiproteinase 3 antibodies in the assessment of patients with suspected vasculitis.** *J Clin Pathol* 2003, **56:** 775-777.

9. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** *Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health* 2007, **Fifth Edition**.

Símbolos utilizados

Dispositivo médico para diagnóstico *In Vitro*

Consulte las instrucciones de uso

Límites de temperatura

No reutilizar

Riesgos biológicos

Código del lote

Número de catálogo

Utilizar antes del tiempo indicado

Fabricante

Representante autorizado

Contenido suficiente para n análisis

Control positivo

Control negativo

Calibrador 1

Calibrador 2

Caja de cartón reciclable

Mantener en esta posición

QUANTA Flash es una marca comercial registrada de INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH es una marca comercial registrada de Biokit SA © 2012

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos de América
Servicio técnico (solo para EEUU y Canadá): 877-829-4745
Servicio técnico (fuera de EEUU): 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante autorizado en la UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmBH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemania
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621130ESP

Septiembre 2012
Revisión 2

CE